Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. F. Schleyer

Weitere Untersuchungen zur optimalen Blutkuchenverflüssigung und nachfolgenden Alkoholbestimmung

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Harald Renner

aus Glienicke

Marburg 1969

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. F. Schleyer

Weitere Untersuchungen zur optimalen Blutkuchenverflüssigung und nachfolgenden Alkoholbestimmung

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Harald Renner

aus Glienicke

Marburg 1969

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 13.2.1969

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät
Dekan: Prof. Dr. med. W. Straub
Referent: Prof. Dr. med. F. Schleyer
Correferent: Prof. Dr. rer. nat. P. Ihm

Inhalt

Seite

A. Fragestellung 1

B. Methoden zur Verflüssigung von Blutkuchen

1. Physiologische Vorbemerkungen 3
2. Medikamentös ausgelöste Fibrinolyse 5

C. Ergebnisse von SCHLEYER

1. Die Analysenwerte am nativ untersuchten Blutkuchen 10
2. Die Analysenwerte am verflüssigten Blutkuchen 10

D. Eigene Versuche

1. Vorversuche zur Ermittlung des optimalen Solvens und der optimalen Technik 12
2. Hauptversuche
   a) Methodik 16
   b) Ergebnisse 16
   c) Besprechung 22

E. Zusammenfassung 25

F. Literatur 26

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534924_0002

A. Fragestellung

Die Frage, ob sich aus dem Alkoholgehalt des Blutkuchens zuverlässig auf den Alkoholgehalt des Vollblutes schließen läßt, ist umstritten. Einerseits sind die physiologischen Vorgänge, die zur Bildung des Blutkuchens führen, in vielen Punkten noch ungeklärt (DEUTSCH, EGLI). Andererseits wechselt der Serumgehalt des Coagulums nicht nur von Individuum zu Individuum, sondern auch innerhalb desselben Blutkuchens. Das ist wiederum von Bedeutung für die Alkoholbestimmung, denn der Alkoholgehalt des Serums ist höher als der der Korpuskeln. Zudem beeinflussen verschiedene physiologische und pathologische Zustände die Menge des im Blutkuchen gespeicherten Serums: bei Thrombozytosen, Anämien, postoperativ und während der Menstruation findet sich ein niedrigerer Serumgehalt, während Gerinnungsdefekte zu einer Serumvermehrung im Coagulum führen können (HIRSCHBOECK, zit. nach ILLCHMANN-CHRIST).

Schließlich geben HALLERMANN und Mitarbeiter eine unterschiedliche Verteilung des Alkohols innerhalb des Blutkuchens an: in den peripheren Bezirken soll sich mehr Alkohol nachweisen lassen als im Inneren. Hinzu kommen Schwierigkeiten bei der Einwaage des Coagulums und die Gefahr, daß Alkohol dabei an Kontaktflächen verlorengeht. Dennoch be-

zeichnete KÜNKELE das Verfahren als praktisch verwertbar, während ILLCHMANN-CHRIST und HALLERMANN gegen die Analyse am Blutkuchen Bedenken äußerten. In jüngster Zeit hat SCHLEYER dann den Gedanken gehabt, den Blutkuchen zur Alkoholbestimmung nicht mehr in Teilen einzuwiegen, sondern ihn zunächst zu verflüssigen. Überraschenderweise lieferte die Alkoholbestimmung am verflüssigten Blutkuchen aber ungenauere Werte als die Bestimmung am festen Blutkuchen.

Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war, die Methodik zu verbessern und ein optimales Verfahren auszuarbeiten. Ein solches Verfahren ist für die Praxis wichtig, da immer wieder einmal Blutcoagula, d.h. Rückstände in zerbrochenen Entnahmeröhrchen, auf den Alkoholgehalt zu untersuchen sind.

B. Methoden zur Verflüssigung von Blutkuchen

1. Physiologische Vorbemerkungen

Aus der Gefäßbahn ausgetretenes Blut gerinnt. Dabei entsteht Fibrin, ein faserig strukturiertes Serumeiweiß, aus der löslichen Vorstufe Fibrinogen (Abb. 1). Von dem Übergang Fibrinogen - Fibrin macht man sich heute folgende Vorstellung (EGLI): Aus dem Linearprotein Fibrinogen spaltet das Enzym Thrombin

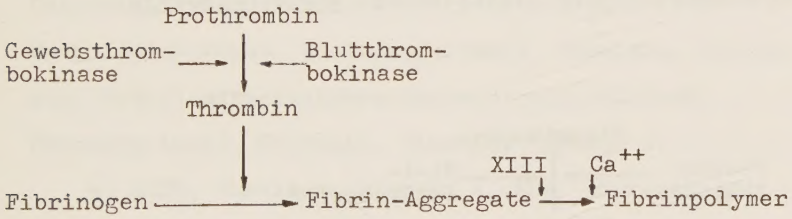

Abb. 1. Schema der Blutgerinnung nach EGLI, abgewandelt nach LORAND

zwei Peptide ab. Es entsteht das polymerisationsfähige Fibrinmonomer. Mehrere Monomere lagern sich durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken zu den "Fibrin-Aggregaten" (LORAND) zusammen. H-Brücken trennende Substanzen wie 5 m Harnstoff können nun

diese Aggregate wieder lösen (deshalb ist auch der Ausdruck "lösliches Fibrin" gebräuchlich). Als nächster Schritt bilden sich echte kovalente Bindungen zwischen den einzelnen Bruchstücken aus: es entsteht das "Fibrinpolymer" (LORAND), wegen seiner Unlöslichkeit in H-Brücken trennenden Substanzen auch als "unlösliches Fibrin" bezeichnet. Für den Übergang der Fibrin-Aggregate zum Fibrinpolymer ist das Vorhandensein des "fibrinstabilisierenden Faktors" (XIII) und von Kalzium notwendig.

Neben dem Blutgerinnungssystem besitzt der Organismus ein System von weitgehend analogem Aufbau und entgegengesetzter Zielrichtung: die Fibrinolyse.

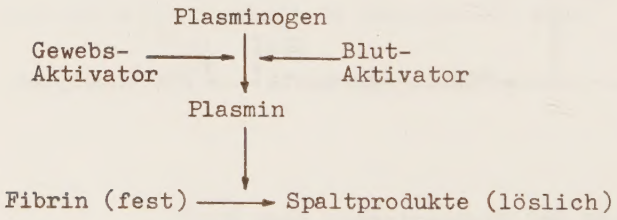

Abb. 2. Schema der Fibrinolyse nach EGLI

Ihre Aufgabe ist es, einmal gebildetes Fibringerinnsel wieder aufzulösen. An dem Übergang von festem Fibrin in seine löslichen Spaltprodukte ist ebenfalls ein

Enzym beteiligt, das Plasmin. Es entsteht aus der Vorstufe Plasminogen unter dem Einfluß eines Gewebs- und eines Blut-Aktivators (Abb. 2).

2. Medikamentös ausgelöste Fibrinolyse

Nach DEUTSCH gibt es insgesamt 34 Stoffe, die die Fibrinolyse fördern sollen:

a) Substanzen, die auf das autonome Nervensystem wirken, vor allem Adrenalin, Priscol (salzsaures Salz des 2-Benzyl-4,5-imidazolin, bewirkt periphere Gefäßdilatation), Veritol (1-(p-hydroxyphenyl)-2-Methylaminopropan, Kreislaufmittel), Pervitin, Stryphnon (Methylamino-acetobrenzkatechin-chlorhydrat, Hämostypticum), Thyroxin, Nikotin, Vitamin K;

b) ACTH, Cortison, Splenin A, DCA, thyreotropes Hormon, p-Aminobenzoesäure, Novocain, Tierkohle, Adrenochrom, Trypsin, Chloroform, Thrombokinase, Lezithin, Toluol, Xylol, Octylalkohol;

c) hydrotrope Stoffe wie Harnstoff über 15%, Natriumhippurat, -benzoat, -salicylat und -rhodanid;

d) zellulärer Aktivator: Fibrinokinase;

e) plasmatische Aktivatoren: Fibrinolysokinase, Plasminogen-Aktivator;

f) Aktivatoren aus Bakterien: Streptokinase, Staphylokinase.

Aus dieser von DEUTSCH übernommenen Aufstellung

ist leider nicht zu ersehen, welche dieser Stoffe in vivo und welche in vitro wirken sollen.

BARKAN und GASPAR haben Lösungen aus NaOH und Natriumoxalat oder Natriumfluorid empfohlen.

Nach JÜHLING und WÖHLISCH wirkt Papain im Sinne einer Fibrinogenolyse.

HALSE rechnet Kaolin und Heparin (mit Einschränkung, s.u.) zu den fibrinolysefördernden Stoffen, LORAND und JACOBSEN 2% Monochloracetessigsäure.

Für unsere Fragestellung scheiden aus der Aufstellung die Stoffe aus, die einen Einfluß auf den Alkoholwert erwarten lassen, also Toluol, Octylalkohol, u.a. Ferner sind die Stoffe, die über das autonome Nervensystem wirken, ungeeignet. Sie beeinflussen das fibrinolytische Geschehen nur intravital (HALSE). Schließlich sind einige der angeführten Medikamente schwer zugänglich oder zu teuer. Auf einige andere Stoffe der Zusammenstellung soll kurz eingegangen werden:

a) Harnstoff. LORAND und LOEWY und Mitarbeiter empfehlen ein Gemisch aus Harnstoff und Thioglykolat. Optimale Löslichkeit ergebe eine Mischung von 9,25 m Harnstoff und 0,1 m Thioglykolat bei pH 9,5 (LOEWY). JÜHLING und WÖHLISCH beobachteten ein Maximum der fibrinolytischen Wirkung bei einer Harnstoffkonzentration von 40%, während bei Konzentrationen unter 15% die Fibrinolyse nicht mehr gefördert werden soll. Sie vermuten, daß der Harnstoff über eine Beseitigung

gegen das Plasminogen (Profibrinolysin) gerichteter Antikörper wirke. Auf einen weiteren Angriffspunkt des Harnstoffs, die Wasserstoffbrücken zwischen den Fibrinmonomeren, wurde bereits hingewiesen.

b) Natriumhippurat, -benzoat, -salicylat und -rhodanid. JÜHLING und WÖHLISCH berichten, daß Versuche mit diesen Stoffen zu ähnlichen Ergebnissen geführt haben wie ihre Experimente mit Harnstoff.

c) Heparin. Nach HALSE wirkt es im gereinigten Gerinnungssystem kräftig antifibrinolytisch, während ein kleiner Zusatz von Menschenplasma eine entgegengesetzte Reaktion bewirken soll. HALSE führt dieses Verhalten darauf zurück, daß Heparin nur in Anwesenheit unbekannter Plasmafaktoren fördernd auf die Fibrinolyse wirken könne. Er gibt weiter an, daß der lytische Prozeß noch empfindlicher als die Gerinnung auf Heparin anspricht. Damit erkläre sich die geringe Konzentration von 1,0 γ Heparin pro 0,1 ml NaCl und 0,5 ml Plasma, die HALSE für optimal hält.

d) Tierkohle, Kaolin. Oberflächenaktive Substanzen und Lösungen wie Toluol, Xylol, Octylalkohol, Methylalkohol, Diäthanolamin, Kaolin, Tierkohle u.a. sollen nach HALSE den fibrinolytischen Prozeß fördern. Für Kaolin gibt er ein Wirkungsoptimum von 1,00 bis 1,25 mg pro 0,1 ml Aqua dest. an, während das Optimum bei Tierkohle weniger ausgeprägt sein soll (zwischen 1,0 und 4,0 mg pro 0,1 ml Aqua dest.). HALSE erklärt die

Wirkung oberflächenaktiver Stoffe auf die Fibrinolyse als Adsorptionsphänomen. Er hält es für möglich, daß sie sich "als Vermittler zwischen Substrat und Ferment schalten".

e) Lezithin. Ebenfalls von HALSE stammt der Hinweis, daß das Lezithin einen außerordentlich starken, wenn auch schwankenden Einfluß auf die Fibrinolyse hat. Dabei wird ausdrücklich betont, daß Lezithin auch am bereits bestehenden Gerinnsel die Fibrinolyse beschleunigt. Als Lösungsmittel für ein Gerinnsel aus 1 ml Plasma empfiehlt HALSE 1,0 ml Serum und 0,5 ml Pufferlösung pH 7,35 und 0,1-5,0 mg Lezithin in 0,1 ml phyiol. NaCl.

f) Synka-Vit, ein synthetisches Vitamin K-Präparat (Hoffmann-La Roche), beschleunigt nach HALSE die Fibrinolyse in vitro, während es den intravasalen Reaktionsablauf nicht beeinflussen soll. Wirkungsoptimum: 1 mg Synka-Vit pro 0,1 ml NaCl-Lösung.

g) NaOH. BARKAN und GASPAR setzten den ausgepreßten und in Aqua dest. gut gewässerten Fibrinflocken in getrennten Versuchen 0,2 g% Natriumoxalat und 0,75 g% Natriumfluorid zu. 24 Stunden später gaben sie die Fibrinflocken in 0,02% NaOH. Nach acht Tagen beobachteten sie einen deutlichen Zerfall[1].

---

[1] Von der Möglichkeit, zwei der besprochenen Reagentien zu kombinieren, wird in der Medizinischen Poliklinik Marburg Gebrauch gemacht. Herrn Oberarzt Dr. VOSS verdanke ich den Hinweis, daß ein Gemisch aus 40 g% Harnstoff und 0,2 n NaOH imstande sei, Blutkuchen zu lösen.

C. Ergebnisse von SCHLEYER

Es wurde bereits erwähnt, daß SCHLEYER als erster den Alkoholgehalt am verflüssigten Blutkuchen bestimmt hat. Nach Vorversuchen mit Varidaselösung (Streptokinase), die zwar die Gerinnsel gut verflüssigte, daneben aber den Alkoholwert stark beeinflußte, wählte er als Lösungsmittel nach LOEWY und Mitarbeitern 9,25 m Harnstoff und 0,1 m Thioglykolat. Den Harnstoff behandelte er vier Tage lang bei 100° C im Vacuum-Exsiccator, das Thioglykolat für zwei Tage bei 45° C. Beide Substanzen waren danach äthanolfrei (ADH-Verfahren), doch ergab das Lösungsmittel, nach Widmark untersucht, eine unspezifische Reduktion von 0,18‰.

Es wurden an 100 Blutproben bestimmt:

a) der Widmark-Wert am Nativblutkuchen,

b) der ADH-Wert am verflüssigten Blutkuchen,

c) der Serum-ADH-Wert,

d) der Serum-Widmark-Wert.

Als Divisor für die Blutkuchen-/Vollblutrelation wurde 0,76 (ILLCHMANN-CHRIST), als Divisor für die Serum-/Vollblutrelation der konventionelle Faktor 1,20 gewählt. Zum Ausgleich der Verdünnung wurde das am verflüssigten Blutkuchen ermittelte Ergebnis mit zwei multipliziert.

1. Die Analysenwerte am nativ untersuchten Blutkuchen

Der Mittelwert aller Abweichungen des Blutkuchenwertes vom Serumwert betrug -0,5%, seine Standardabweichung 9,2%. Wurden die mittleren Fehler beider Quotienten berücksichtigt, und wurde als Mittelwert für den Serum-/Vollblutquotienten 1,17 (ILLCHMANN-CHRIST) statt 1,20 gewählt, so ließen sich die Differenzen von Blutkuchen- zu Serumwert ausmerzen. Die grundsätzlichen Bedenken von HALLERMANN und Mitarbeitern gegenüber Alkoholbestimmungen am Blutkuchen nennt SCHLEYER nach diesen Ergebnissen "zu rigoros". Dagegen hält er die übliche Analyse am Blutkuchen für ausreichend genau, wenn vorsorglich ein Analysenfehler von $\pm$ 9% (1σ-Bereich) und die Variationsbreite des Divisors im 1σ-Bereich eingerechnet werden.

2. Die Analysenwerte am verflüssigten Blutkuchen

Zweierlei ist an diesen Werten bemerkenswert:

1) 79% der Fälle lagen über und nur 13% unter dem Serum-Bezugswert. Diese Tendenz zu "zu hohen" Endwerten ließe sich korrigieren, wenn als Divisor 0,795 statt des Quotienten 0,76 angewandt wird.

2) In 78% der Fälle wich der Analysenwert am

verflüssigten Blutkuchen stärker vom Serum-Bezugswert ab als der Analysenwert am Nativblutkuchen. Auch nach der unter 1) erwähnten Korrektur war das Ergebnis sichtlich schlechter als das der Untersuchung am Nativblutkuchen.

D. Eigene Versuche

1. Vorversuche zur Ermittlung des optimalen Solvens und der optimalen Technik

Drei Eigenschaften wurden von dem gesuchten Lösungsmittel gefordert:

- rasche Lösung des Blutkuchens (Stunden bis wenige Tage),
- hohe Wirksamkeit (etwa 1 ml Solvens pro g Substrat ausreichend für eine vollständige Lyse),
- keine Beeinflussung der Alkoholwerte.

Technik und Ergebnisse

Zur Alkoholbestimmung eingesandte Blutproben wurden zentrifugiert, das Serum wurde abgegossen, der Blutkuchen auf Filterpapier von oberflächlichem Serum befreit, abgewogen und mit einem der folgenden Lösungsmittel versetzt:

a) 150 mg Aktivkohle in 10 ml Aqua dest. (HALSE) bei Zimmertemperatur. Verhältnis Substrat zu Solvens 1:2. Ergebnis: nach fünf Tagen keine nennenswerte Lyse.

b) 0,2 g% Natriumoxalat, nach 24 Stunden ersetzt durch 0,02 g% NaOH (BARKAN und GASPAR). Zimmertemperatur. Verhältnis Substrat zu Solvens 1:2. Ergebnis:

nach fünf Tagen keine nennenswerte Lyse.

c) 0,75 g% Natriumfluorid, nach 24 Stunden ersetzt durch 0,02 g% NaOH (BARKAN und GASPAR). Zimmertemperatur. Verhältnis Substrat zu Solvens 1:2. Ergebnis: nach fünf Tagen keine nennenswerte Lyse.

d) 1 mg Synka-Vit in 0,1 ml physiol. NaCl-Lösung (HALSE) bei Zimmertemperatur. Verhältnis Substrat zu Solvens 1:1. Ergebnis: nach fünf Tagen erkennbare, aber unvollständige Lyse. Variationen der Versuchsbedingungen, wie Wärmeschrank (37° C), Erhöhung der Konzentration auf 2 mg Synka-Vit in 0,1 ml physiol. NaCl und Abänderung des Verhältnisses Substrat zu Solvens auf 1:2 brachten keine wesentliche Besserung.

e) 50 γ Heparin (Präparat "Liquemin" der Hoffmann-La Roche-AG) in 5 ml physiol. NaCl-Lösung und 0,5 ml Plasma (HALSE). Zimmertemperatur. Verhältnis Substrat zu Solvens 1:1. Ergebnis: nach fünf Tagen erkennbare, aber unvollständige Lyse. Variationen der Versuchsbedingungen, wie Wärmeschrank (37° C), Erhöhung der Konzentration auf 100 und 200 γ Liquemin, sowie Veränderung des Verhältnisses Substrat zu Solvens auf 1:2 brachten keine wesentliche Besserung.

f) 20 g Harnstoff auf 50 ml Aqua dest. und 0,4g NaOH auf 50 ml Aqua dest. Verhältnis Substrat zu Solvens 1:2. Ergebnis: nach fünf Tagen erkennbare, aber unvollständige Lyse des Blutkuchens. Variationen der Versuchsbedingungen waren erfolgreich. Es wurden

variiert:

aa) die in jeweils 50 ml Aqua dest. gelösten Harnstoffmengen: 6 g (2 m); 15 g (5 m); 21 g (7 m); 27 g (9 m); 27,7 g (ca. 9,25 m); 30 g (10 m). Ergebnis: beste Löslichkeit zwischen 27 g und 30 g; die Versuchsergebnisse von LOEWY und Mitarbeitern (s.S.6) wurden also bestätigt;

bb) die in jeweils 50 ml Aqua dest. gelösten NaOH-Mengen: 0,6 g (0,3 m); 1,2 g (0,6 m); 1,8 g (0,9 m); 2,4 g (1,2 m); 3,0 g (1,5 m); 3,6 g (1,8 m); 5,0 g (2,5 m); 6,0 g (3,0 m); 7,0 g (3,5 m); 8,0 g (4 m). Ergebnis: beste Löslichkeit zwischen 6,0 und 7,0 g;

cc) die Temperatur: 37° C; 45° C. Ergebnis: bessere Löslichkeit bei 37° C;

dd) das Verhältnis Substrat zu Solvens: 1:2; 1:1. Ergebnis: 27,7 g Harnstoff und 6,6 g NaOH auf 100 ml Aqua dest. lösen bei 37° C im gewünschten Verhältnis Substrat zu Solvens 1:1 Blutkuchen innerhalb von 12 bis 24 Stunden vollständig.

Zwar hatte von den sechs untersuchten Stoffen nur einer eine ausreichende fibrinolytische Aktivität, doch können daraus keine Zweifel an den von BARKAN und GASPAR und HALSE beschriebenen Versuchen abgeleitet werden. Erstens sprechen diese Autoren immer nur von "Zunahme der Fibrinolyse" oder "deutlichem Zerfall", nicht dagegen von einer vollständigen Lyse

des Blutkuchens. Zweitens unterlag in ihren Versuchen das Verhältnis Substrat zu Solvens keiner Beschränkung.

In Vorversuchen sollte weiter geklärt werden, ob sich genauere Analysenwerte erzielen lassen, wenn der Alkoholgehalt an der doppelten Substratmenge bestimmt wird. Es zeigte sich, daß Einwaagen von etwa 200 mg gelöstem Blutkuchen je Analyse bessere Ergebnisse liefern als solche von etwa 100 mg je Analyse.

2. Hauptversuche

a) Methodik

Herstellung einer Lösung von 27,7 g Harnstoff und 6,6 g NaOH auf 100 ml Aqua dest.

Zur Untersuchung wurden alle Blutprobeneinsendungen einer fortlaufenden Serie verwandt, deren (bereits ermittelte) Widmark-Serumwerte höher als 0,80‰ lagen. Keine der Blutproben war älter als zwei Monate. Sie wurden wie in den Vorversuchen zentrifugiert, das Serum wurde abgegossen, der Blutkuchen auf Filtrierpapier leicht abgetupft, ein Stück von 400 bis 800 mg abgewogen, mit der gleichen Menge des Lösungsmittels in ml versehen und in einem verschlossenen Reagensglas 24 Stunden bei 37° C im Wärmeschrank stehengelassen. Danach wurde die Lösung gut durchgeschüttelt und in drei Einzelanalysen an Einwaagen von jeweils 200 bis 210 mg der Widmark-Wert ermittelt. Zum Ausgleich der Verdünnung wurde mit 2 multipliziert. Auf Vollblut wurde mit dem Quotienten 0,795 (SCHLEYER) umgerechnet. Die Ergebnisse wurden mit den Widmark-Werten im Serum verglichen.

b) Ergebnisse

Zur Prüfung der Frage, ob und in welcher Weise

das Harnstoff-NaOH-Gemisch den Alkohol-Analysenwert beeinflußt, wurde während der Hauptversuche 18mal in regelmäßigen Abständen die Reduktion des Lösungsmittels nach Widmark bestimmt. Die Analysenwerte wichen in der Mehrzahl der Fälle nur geringfügig vom Leerwert ab. Deshalb wurde der Einfluß des Lösungsmittels bei der Berechnung der Alkoholwerte vernachlässigt. Auf die zeitraubende und aufwendige Vorbehandlung des Gemisches im Vacuumexsiccator konnte ebenfalls verzichtet werden.

Es wurden 114 Fälle untersucht (s. Tabelle I). In Analogie zu SCHLEYER wurde aus den drei Einzelanalysen auch dann der Mittelwert gebildet, wenn ein oder mehrere Einzelwerte um mehr als 10% vom Mittel abwichen. 50mal lag das Ergebnis höher und 44mal niedriger als der Serum-Bezugswert. 20mal bestand keine Differenz. Abweichungen um weniger als 2% wurden als Null gerechnet. Der Blutkuchenwert betrug im Mittel 1,60‰, der Serumwert ebenfalls 1,60‰. Aus Abbildung 3 ist das Verhältnis von Blutkuchen- zu Serumalkoholwerten in den 114 Fällen ersichtlich. Abbildung 4 zeigt die prozentualen Abweichungen und läßt erkennen, wie oft jeweils eine bestimmte Prozentzahl erreicht wurde. Um die Frage zu klären, ob die wenigen starken Abweichungen vom Bezugswert auf Analysenfehlern beruhten oder auf einen der eingangs erwähnten physiologischen oder pathologischen Zustände mit abnorm verändertem Serumgehalt im Blutkuchen

Tab. I. Blutalkoholwerte, nach Widmark am Serum und am verflüssigten Blutkuchen ermittelt

Nr.	Serum ‰	Blutkuchen ‰	Nr.	Serum ‰	Blutkuchen ‰
1	1,61	1,73	29	2,09	2,18
2	2,39	2,31	30	1,38	1,36
3	1,18	1,25	31	1,66	1,59
4	1,69	1,79	32	1,70	1,76
5	1,65	1,58	33	2,01	1,78
6	1,73	1,97	34	1,96	1,98
7	1,96	2,10	35	1,88	1,72
8	2,20	2,10	36	1,04	1,09
9	1,66	1,59	37	1,27	1,30
10	1,97	1,89	38	2,03	2,07
11	1,72	1,80	39	2,10	2,26
12	1,63	1,38	40	0,94	1,18
13	1,08	1,17	41	1,21	1,56
14	1,19	1,11	42	1,85	1,84
15	2,22	1,95	43	2,17	2,40
16	1,30	1,61	44	1,70	1,74
17	1,32	1,23	45	1,73	1,62
18	1,17	1,16	46	0,98	0,99
19	1,49	1,51	47	1,51	1,50
20	1,70	1,72	48	0,81	0,84
21	1,66	1,72	49	1,52	1,43
22	1,69	1,81	50	1,27	1,11
23	1,75	1,59	51	1,86	1,70
24	2,40	2,31	52	1,43	1,40
25	1,87	2,15	53	1,87	1,58
26	1,80	1,89	54	1,75	1,71
27	1,60	1,57	55	1,84	1,82
28	1,85	1,84	56	1,40	1,39

Tab. I, Forts.

Nr.	Serum ‰	Blutkuchen ‰	Nr.	Serum ‰	Blutkuchen ‰
57	2,40	2,73	86	1,74	1,66
58	1,76	1,83	87	0,93	0,94
59	1,60	1,41	88	1,00	1,03
60	2,00	1,86	89	1,91	1,84
61	1,98	2,13	90	1,83	1,74
62	2,40	2,18	91	1,26	1,26
63	1,76	1,86	92	1,50	1,48
64	2,00	2,02	93	0,88	0,90
65	1,06	1,00	94	1,58	1,50
66	1,84	1,81	95	0,89	0,92
67	1,69	1,67	96	1,06	1,06
68	0,85	1,13	97	0,86	0,82
69	1,73	1,57	98	1,91	2,13
70	1,95	1,98	99	1,77	1,73
71	0,96	1,02	100	1,30	1,37
72	1,21	1,12	101	0,94	0,99
73	1,10	1,03	102	1,21	1,31
74	1,70	1,84	103	0,91	0,83
75	2,19	2,12	104	1,63	1,21
76	1,44	1,71	105	1,23	1,23
77	0,89	1,04	106	1,17	1,25
78	1,74	1,69	107	0,99	1,15
79	2,32	2,35	108	2,12	2,15
80	1,86	1,81	109	1,68	1,82
81	1,79	1,74	110	2,08	2,29
82	1,72	1,85	111	1,15	1,37
83	0,85	0,89	112	0,91	1,06
84	1,94	2,03	113	2,50	2,42
85	2,02	1,88	114	1,59	1,76

hindeuten, wurden von drei dieser Blutkuchen (+ 32%, + 25% und + 24% Abweichung) noch einmal Teile verflüssigt und ihr Alkoholgehalt bestimmt. Die Abweichungen betrugen bei dieser zweiten Analyse zweimal 5% und einmal 8%, es handelt sich also bei den Abweichungen offenbar um unsystematische Versuchsfehler.

Der Mittelwert aller Abweichungen des Blutkuchenwertes vom Serumwert betrug + 0,84%.

Die Standardabweichung des Blutkuchenwertes vom Serumwert wurde nach der Formel

$$\sigma = \sqrt{\frac{[x^2]}{n-1}}$$

berechnet. Dabei bedeuten

σ = Standardabweichung

n = Anzahl der Messungen

x = Abweichung des Blutkuchenwertes vom Serum-Bezugswert in %o

[] = die von Gauß eingeführte Schreibweise für Summenbildung in der Fehlerrechnung.

Die Standardabweichung betrug

$\sigma = \frac{2,10}{113} = 0,136$%o entsprechend einem Variationskoeffizienten von 8,5%, bezogen auf den mittleren Serumwert 1,60%o.

Da die prozentualen Abweichungen der Blutkuchenwerte vom jeweiligen Serum-Bezugswert mit steigender Alkoholkonzentration offenbar geringer werden, wurde der Bereich der untersuchten Blutproben (0,80%o bis 2,50%o) viermal unterteilt und für jeden der vier

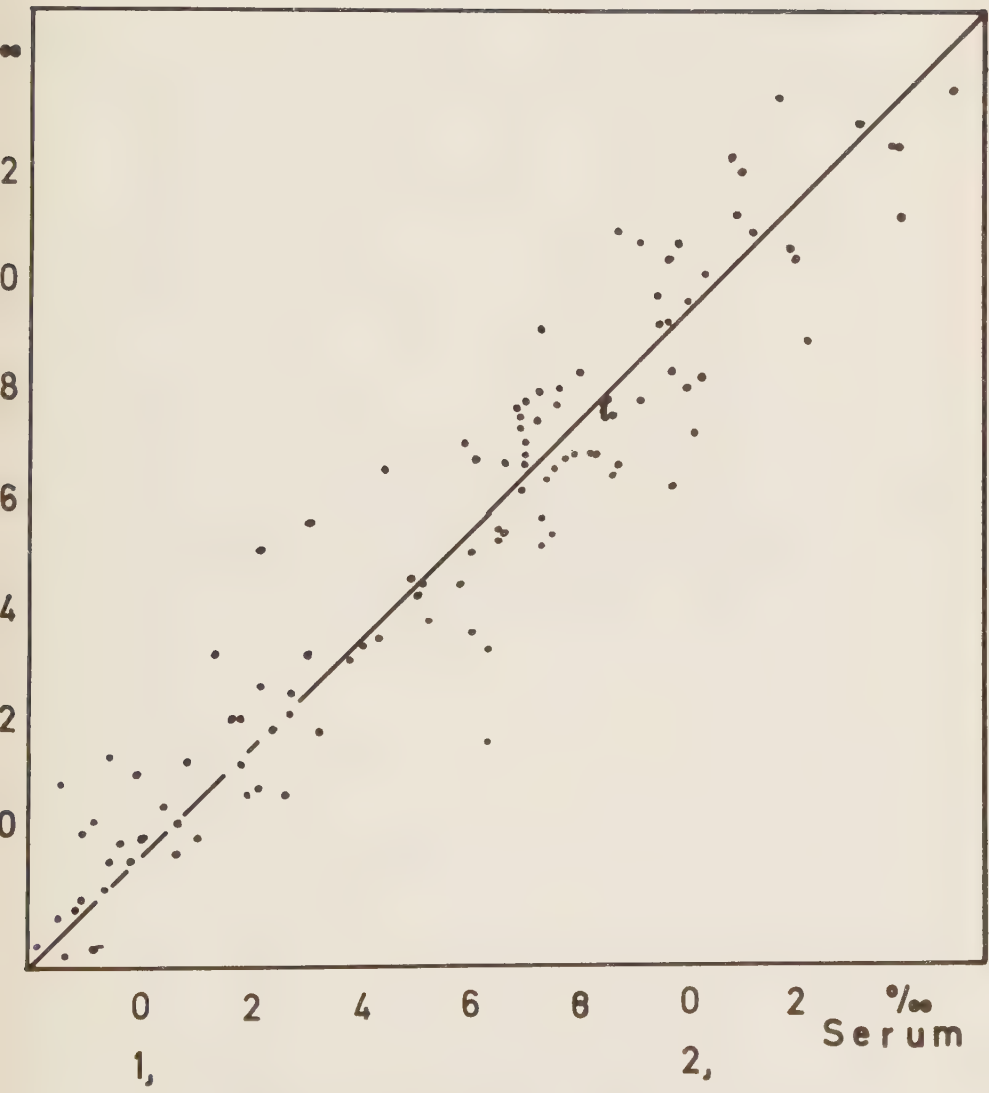

Abb. 3. Verhältnis von Blutkuchen- zu Serumalkoholwerten (Widmark-Methode), umgerechnet auf Vollblut mit dem Divisor 0,795 für den verflüssigten Blutkuchen

Unterbereiche die Standardabweichung getrennt berechnet.

Es ergaben sich

für den Bereich zwischen 0,80 und 1,19‰ (23 Fälle) eine Standardabweichung von 0,115‰ entsprechend 11,5% des mittleren Serumwertes 1,00‰;

für den Bereich zwischen 1,20 und 1,59‰ (23 Fälle) eine Standardabweichung von 0,136‰ entsprechend 9,7% des mittleren Serumwertes 1,40‰;

für den Bereich zwischen 1,60 und 1,99‰ (49 Fälle) eine Standardabweichung von 0,136‰ entsprechend 7,6% des mittleren Serumwertes 1,80‰;

für den Bereich zwischen 2,00 und 2,50‰ (19 Fälle) eine Standardabweichung von 0,166‰ entsprechend 7,4% des mittleren Serumwertes 2,25‰.

Abb. 4. Verteilung der 94 Fälle von Abweichungen des Blutkuchenwertes (Widmark) vom Serumwert (Widmark). Abszisse: Plus- und Minusprozente der Differenzen. Ordinate: Zahl der Fälle je Klasse.

c) Besprechung

Die geringe Abweichung des mittleren Blutkuchenwertes vom mittleren Serumwert (+ 0,84%) beweist die Gültigkeit des von SCHLEYER ermittelten Blutkuchen-/Vollblut-Quotienten 0,795. Voraussetzung ist allerdings, daß die Alkoholfreiheit der Chemikalien im Blindversuch geprüft wird. Im Falle einer Reduktion müssen die Chemikalien vorher durch Trocknen im Vakuum oder durch Sublimation alkoholfrei gemacht werden.

Die Untersuchung von SCHLEYER ist die einzige Arbeit, die sich mit Alkoholbestimmungen am chemisch verflüssigten Blutkuchen befaßt und für einen Vergleich mit den vorliegenden Versuchsergebnissen in Frage kommt. SCHLEYER hat jedoch wegen der offensichtlich zu starken Streuung seiner Analysenwerte auf ihre statistische Auswertung verzichtet. So muß als Vergleichsgröße die Standardabweichung herangezogen werden, die SCHLEYER nach seinen Untersuchungen am festen Blutkuchen bestimmte. Sie betrug 9,2% (s.o.), lag also etwas höher als die Standardabweichung, bezogen auf den mittleren Serumwert, der vorliegenden Untersuchung (8,5%). Die Überlegungen SCHLEYERS, nach denen Alkoholbestimmungen am verflüssigten Blutkuchen genauer ausfallen müßten als am festen, finden somit eine praktische

Bestätigung.

HALLERMANN und Mitarbeiter sind der Ansicht, daß die Alkoholaufnahmefähigkeit von Blutkuchen zu Blutkuchen "in weiten, durch zufällige Abweichungen nicht mehr zu erklärenden Grenzen" schwanke und berufen sich auf "die aus Klinik und Physiologie bekannten Ergebnisse". Dagegen deuten die vorliegenden Untersuchungen darauf hin, daß diese individuellen Schwankungen entweder so gering sind, daß sie in der überwiegenden Mehrzahl in die Fehlerbreite der beiden Quotienten fallen oder so selten, daß sie in 114 aufeinanderfolgenden Blutprobeneinsendungen nicht unbedingt aufzutreten brauchen. Auch die Tatsache, daß drei der schlechtesten Werte bei einer Wiederholungsbestimmung ausnahmslos gute Ergebnisse lieferten, läßt eher auf Fehler bei der ersten Bestimmung schließen als auf eine den Blutkuchenanalysen eigene Unzuverlässigkeit.

Für die Praxis wird man bei der Blutkuchenanalyse nach dem nunmehr als optimal ermittelten Verfahren folgende Streuung des Ergebnisses im 1 σ -Bereich einrechnen dürfen:

zwischen 0,80 und 1,19‰	± 11,5%
zwischen 1,20 und 1,59‰	± 9,7%
zwischen 1,60 und 1,99‰	± 7,6%
zwischen 2,00 und 2,50‰	± 7,4%.

Nachtrag: 1958 hat DETTLING eine Methodik zur Fragestellung der vorliegenden Arbeit beschrieben, bei der der Blutkuchen in einem Hochfrequenz-Dispergierungs- und Homogenisierungsapparat mechanisch homogenisiert wird (DETTLING, J.: Ergebnisse methodischer Kontrolluntersuchung der quantitativen Aethylalkoholbestimmungen in der Schweiz. Schweiz. Med. Wschr. 7, 152, 1958). Nach 11 Doppelbestimmungen des Alkoholgehaltes in koaguliertem und in homogenisiertem Blut bezeichnete DETTLING die mechanische Homogenisierung als "sehr zweckmäßig". Die Ergebnisse wurden nicht statistisch ausgewertet.

E. Zusammenfassung

Nach Vorbemerkungen über die Fibrinolyse in vivo und in vitro im allgemeinen und einer Übersicht über Methoden und Ergebnisse bereits vorliegender Versuche zur Themastellung wurde als optimales Solvens eine wässerige Lösung von 27,7 g Harnstoff und 6,6 g NaOH auf 100 ml H_2O im Verhältnis Solvens zu Blutkuchen 1:1 ermittelt. Dieses Lösungsmittel löst Coagula innerhalb von 12 bis 24 Stunden vollständig. Als optimale Einwaage der verflüssigten Substrate wurden etwa 200 mg (statt etwa 100 mg wie bei der üblichen Alkoholbestimmung in Flüssigkeiten) ermittelt. Der Vergleich mit den vorher am Serum dieser Blutproben gefundenen Alkoholwerten ergab in den untersuchten 114 Fällen als Mittelwert der Differenzen + 0,84%. Die Standardabweichung, bezogen auf den mittleren Serumwert und ausgedrückt als Variationskoeffizient, betrug 8,5%. Zwischen 0,80 und 1,19‰ ergab sich eine Standardabweichung von 11,5%, zwischen 1,20 und 1,59‰ von 9,7%, zwischen 1,60 und 1,99‰ von 7,6% und zwischen 2,00 und 2,50‰ von 7,4%. Die ausgearbeitete einfache Methodik der Alkoholbestimmung an Blutgerinnseln ist in den angegebenen Streugrenzen von ausreichender Zuverlässigkeit.

F. Literatur

BARKAN, G. und A. GASPAR: Zur Frage der Reversibilität der Fibringerinnung. Biochem. Z. 139, 291 (1923)

DEUTSCH, E.: Blutgerinnungsfaktoren, Wien (Deuticke) 1955

EGLI, H.: Welche Aktivatoren, Fermente und Inhibitoren spielen bei der Gerinnung und Fibrinolyse eine Rolle? Therapeutische Berichte 2, 71 (1966)

HALLERMANN, W., V. SACHS und E. STEIGLEDER: Alkoholbestimmungen in geronnenem Blut. Z. gerichtl. Med. 49, 431 (1959/60)

HALSE, T.: Fibrinolyse, Freiburg - Aulendorf (Ed. Cantor) 1948

HIRSCHBOECK, J.: The Effect of Operation and Illness on Clot Retraction; Description of a New Method. J. Lab. clin. Med. 33, 346 (1948)

ILLCHMANN-CHRIST, A.: Untersuchungen über die Relationen von Blutkuchen-Vollblut-(Serum-)Alkoholwerten. Zugleich ein Beitrag zur Umrechnung von Serum- auf Vollblut-Alkoholkonzentrationen. Z. gerichtl. Med. 49, 113 (1959/60)

JÜHLING, L. und E. WÖHLISCH: Über Fibrinogenolyse unter dem Einfluß hydrotroper Substanzen. Biochem. Z. 139, 291 (1923)

KÜNKELE, F.: Zur Blutalkoholbestimmung. (Über die Verteilung des Alkohols in geronnenem Blut.) Z. gerichtl. Med. 26, 241 (1936)

LOEWY, A. and J. EDSALL: Studies on the Formation of Urea-Insoluble Fibrin. J. biol. Chem. 211, 829 (1954)

LOEWY, A., J. GALLANT and K. DUNATHAN: Fibrinase (IV). J. biol. Chem. 236, 2648 (1961)

LORAND, L.: Fibrin Clots. Nature 166, 694 (1950)

LORAND, L. and A. JACOBSEN: Studies on the Polymerization of Fibrin. J. biol. Chem. 230, 421 (1958)

SCHLEYER, F.: Versuche zur Alkoholbestimmung am verflüssigten Blutkuchen. Blutalkohol 3, 484 (1966)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. F. S c h l e y e r für die Überlassung des Themas und für seine Unterstützung und Anleitung, sowie Herrn Prof. Dr. P. I h m für Beratung bei der mathematischen Behandlung der Ergebnisse.

Lebenslauf

Am 30.1.1942 wurde ich als Sohn des Diplom-Ingenieurs Dr. Otto Renner und seiner Ehefrau Gudrun, geb. Detering in Glienicke bei Berlin geboren. Ostern 1948 wurde ich in Brackwede i.W. in die dortige Volksschule eingeschult. Ostern 1952 trat ich nach bestandener Aufnahmeprüfung in die Liebigschule, Realgymnasium für Jungen in Frankfurt a.M. ein. Dort bestand ich 1961 das Abitur. Im April 1961 wurde ich zur Bundesmarine einberufen, die ich im April 1963 als Leutnant zur See d.R. verließ. Im Sommersemester 1963 begann ich das Studium der Medizin an der Justus Liebig-Universität in Gießen. Am 20.4.1964 bestand ich dort die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 30.9.1965 die ärztliche Vorprüfung. Im Wintersemester 1965/66 begann ich mein klinisches Studium an der Philipps-Universität in Marburg. Am 10.2.1969 bestand ich dort die Staatsprüfung.

Meine akademischen Lehrer waren:

in Gießen die Herren Professoren und Dozenten
Albers, Ankel, Blasius, v. Denffer, Dodt, Ewald,
Fritz, Hanle, Krisch, Kröhnke, Neumann, Oksche,
Richter, Rohen, Rollhäuser, Scharmann, Staudinger,
Thauer;

in Marburg die Herren Professoren und Dozenten
Beckmann, Berendes, Bommer, Braun-Falco, Buchholz,
Cleve, Deicher, Delbrück, Dölle, Exner, Gedigk,
Hamm, Herrmann, Heuser, Hildebrandt, Jacob, Knauff,
Lang, Lehmann-Grube, Linneweh, Löhr, Mann, Marghescu,
Martini, Marx, du Mesnil de Rochemont, Pots, Rassner,
Rodeck, Rodenhäuser, Schiff, Schleyer, W. Schmid,
F. W. Schmidt, Schrappe, Schwaiger, Siegert, Siess,
Staib, Straub, Streicher, Würterle.